

# 玄麦甘桔颗粒化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS 快速分析方法

吴茵\*, 邱志宏, 白万军, 董占军  
(河北省人民医院, 石家庄 050051)

**[摘要]** **目的:**采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术对玄麦甘桔颗粒的化学成分进行检测分析。**方法:**采用XB-Bridge BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.5 μm),以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>。质谱使用ESI离子源,正、负离子模式扫描采集数据。**结果:**根据精确相对分子质量和碎片离子分析,并结合相关文献检索及质谱裂解规律,共鉴定出33个化学成分,9个环烯醚萜类成分,20个黄酮类成分,4个皂苷类成分。**结论:**该文建立了一种基于UPLC-Q-TOF-MS的快速成分分析方法,为研究玄麦甘桔颗粒的化学成分,及进一步物质基础研究提供了技术支持。

**[关键词]** 玄麦甘桔颗粒;超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱;化学成分;玄参;麦冬;甘草;桔梗

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)22-0070-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2017220070

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170906.1414.068.html>

**[网络出版时间]** 2017-09-06 14:14

## Rapid Analysis of Chemical Constituents in Xuanmai Ganjie Granules by UPLC-Q-TOF-MS

WU Yin\*, QIU Zhi-hong, BAI Wan-jun, DONG Zhan-jun  
(Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze and identify the chemical constituents of Xuanmai Ganjie granules by ultra-performance liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). **Method:** The separation was performed on an XB-Bridge BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 2.5 μm) with acetonitrile-0.1% formic acid solution as mobile phase for gradient elution. The flow rate was 0.3 mL·min<sup>-1</sup>. Electrospray ionization source was used to scan and collect data in positive and negative ion modes. **Result:** According to the high resolution MS spectra data, fragmentation ion information and retention time, 33 chemical constituents of Xuanmai Ganjie granules were identified including 9 iridoid glycosides, 20 flavonoids, and 4 saponins by comparison with literature reports and MS cleavage mechanism. **Conclusion:** The established rapid analysis method based on UPLC-Q-TOF-MS could provide technical support for studying the chemical constituents of Xuanmai Ganjie granules and further studies on its material basis.

**[Key words]** Xuanmai Ganjie granules; UPLC-Q-TOF-MS; chemical constituents; Radix Scrophulariae; Radix Ophiopogonis; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; Radix Platycodonis

玄麦甘桔颗粒源于古方玄麦甘桔汤,由玄参、麦冬、甘草、桔梗4味药材等比组成,具有滋阴润肺、祛痰利咽的功效,临床用于治疗阴虚火旺所致的咽炎、咳嗽等呼吸道疾病<sup>[1-2]</sup>。玄麦甘桔颗粒疗效确切,

但中药复方制剂存在着成分复杂、机制不清、质量控制困难等缺点。因此,对传统中药复方进行现代化研究,明确其物质基础,应用现代检测手段控制其质量,是中药现代化的核心。目前关于玄麦甘桔颗粒

**[收稿日期]** 20170602(010)

**[基金项目]** 河北省卫生厅青年科技课题项目(ZL20140340);河北省中医药管理局指导性项目(2014152)

**[通讯作者]** \* 吴茵,博士,主管药师,从事天然产物体内外分析研究,Tel:0311-85988807,E-mail: wuyin82@163.com

的质量控制研究主要集中在多指标成分定量分析<sup>[3-6]</sup>,2015 年版《中国药典》在含量测定项下仅选择了哈巴俄苷和甘草酸为指标成分,对方中其他药味的成分未做要求。张萍等<sup>[7]</sup>采用 HPLC 对玄麦甘桔颗粒指纹图谱进行研究,共确定了 20 个共有峰,但并未对这些共有峰进行指认。中药复方通过多成分、多途径、多靶点发挥其治疗作用,玄麦甘桔颗粒中复杂的化学组成与药效之间的关联性是阐明其物质基础的关键。超高效液相-飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术分析速度快、灵敏度高、质量准确并可全谱记录,在快速分析鉴定中药化学成分方面优势显著,使得中药复杂体系的深入研究成为可能。玄麦甘桔颗粒作为一个复杂的复方体系仅以其中某些主要成分进行定量不足以全面评价该制剂的内在质量。本研究拟采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对玄麦甘桔颗粒中化学成分进行研究,根据精确相对分子质量、同位素丰度比、分子碎片峰,参考相关文献、对照品色谱保留时间及二级质谱,建立玄麦甘桔颗粒中化学成分快速识别鉴定方法,为该药物的药效物质基础及作用机制研究奠定了基础,并为其质量评价方法提供依据。

## 1 材料

AB Sciex Triple TOF<sup>TM</sup> 5600<sup>+</sup> 型飞行时间质谱仪(美国 Applied Biosystems 公司),30A UPLC System 型超高效液相色谱系统(日本 Shimadzu 公司,配有 30AD 二元高压梯度泵,CTO30A 柱温箱和 SIL30AC 自动进样器);Analyst 1.7.1 数据采集软件,Peakview 2.2, Masterview 2.0 数据分析软件;BP211D 型分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),KQ500DE 型超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇、乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司),甲酸(色谱纯,美国 Fisher 公司),自制超纯水(美国 Millipore 公司)。对照品哈巴俄苷(批号 20141015),哈巴俄苷(批号 20141125),麦冬皂苷 D(批号 20140305),麦冬黄烷酮 A(批号 20140617),麦冬黄烷酮 B(批号 20140612),甘草苷(批号 20140923),甘草酸铵(批号 20140926)和桔梗皂苷 D(批号 20140519)均购自南京春秋生物科技有限公司,纯度均 >98%。玄麦甘桔颗粒自药店购买(规格 10 g/袋,成都第一制药有限公司,批号 160014)。

## 2 方法

### 2.1 分析条件

**2.1.1 液相条件** 采用 XB-Bridge BEH C<sub>18</sub> 色谱柱

(2.1 mm × 100 mm, 2.5 μm),柱温 25 °C,流动相 A 为乙腈,B 为 0.1% 甲酸水溶液,梯度洗脱(0 ~ 25 min, 10% ~ 90% A),流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 3 μL。

**2.1.2 质谱条件** 电喷雾正、负离子扫描模式,离子源电压分别为 5 500, -4 500 V,离子源温度 550 °C,雾化气体 N<sub>2</sub>,雾化气、辅助气压力 379.17 kPa,气帘气压力 241.29 kPa,裂解电压 ± 100 V,碰撞能量 ± 30 eV,碰撞能量扩展 15 eV。TOF-MS 扫描范围 100 ~ 1 400 Da,IDA 设置响应值超过 100 cps 的 10 个最高峰进行二级质谱扫描;Product Ion 扫描范围 50 ~ 1 000 Da,开启动态背景扣除。

**2.2 供试品溶液制备** 取胶囊内容物适量,混合均匀,精密称定 0.1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 10 mL,超声 20 min,冷却后离心,经微孔滤膜(0.22 μm)过滤后作为供试品溶液。

**2.3 对照品溶液的制备** 分别取哈巴俄苷,哈巴俄苷,麦冬皂苷 D,麦冬黄烷酮 A,麦冬黄烷酮 B,甘草苷,甘草酸铵和桔梗皂苷 D 共 8 个对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇配制成质量浓度分别 25, 40, 80, 20, 15, 12, 10, 20, 50, 100 μg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.4 数据分析** 查阅国内外相关文献,收集组方中玄参、麦冬、甘草、桔梗 4 味药材的化学成分信息,建立化学结构数据库,包括英文名称、分子式、精确相对分子质量、植物来源、所属类型及 CAS 号。同时依据色谱峰的同位素丰度和一级、二级质谱,采用 Formula Finder 计算其精确相对分子质量,推测其可能的化学组成。通过与对照品保留时间和二级质谱数据对比,确认推断结果;对于一些无法获得对照品的化合物,依据 MS/MS 碎片信息以及反相色谱行为,进一步推断其结构。最后通过与文献及所建数据库中的信息对照,快速指认可能的化学成分。

## 3 UPLC-Q-TOF-MS 分析

分别取对照品和供试品溶液,按 2.1 项下分析条件进样,分别采用正、负离子模式,结果显示,玄麦甘桔颗粒中各主要成分在负离子模式下多具有较好的响应,正离子模式下响应较小。正、负离子模式下 LC-TOF-MS 全扫描的总离子流色谱见图 1。在负离子模式下,准分子离子峰一般为 [M - H]<sup>-</sup>, 同时还有部分化合物显示出了高丰度的 [M - H + COO]<sup>-</sup> 离子峰。结合化合物一、二级质谱信息与对照品进行比对,共鉴定和推测了玄麦甘桔颗粒中 33 个化学成分,见表 1,其中 8 个来自玄参,5 个来自麦冬,18 个来自甘草,2 个来自桔梗。

**3.1 环烯醚萜苷类** 该类结构主要来自玄参,代表

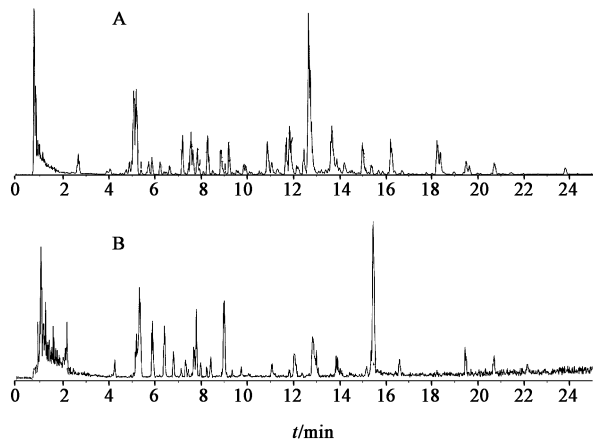


图 1 玄麦甘桔颗粒提取物负离子(A)和正离子(B)离子流  
Fig.1 Ion chromatogram in negative (A) and positive (B) for Xuanmai Ganjie granules

成分有哈巴昔和哈巴俄昔。玄参中该类成分报道较多<sup>[8-10]</sup>,在碰撞能的作用下,可观察到酯键首先断裂,丢失糖苷键断裂,由于环烯醚萜苷元上存在羟基,会出现中性丢失脱去水分子的现象;此外环烯醚萜可能会发生开环和进一步裂解。以哈巴昔(峰 1)为例,负离子模式下准分子离子峰 363  $[M - H]^-$  脱去葡萄糖基并连续脱水形成碎片离子  $m/z$  201.078 6  $[M - H - Glu]^-$ ;  $m/z$  183.068 2  $[M - H - Glu - H_2O]^-$ ;  $m/z$  165.057 3  $[M - H - Glu - 2H_2O]^-$ ,准分子离子脱去葡萄糖基后进一步开环形成碎片离子  $m/z$  157.042 8  $[M - H - Glu - C_2H_4O]^-$ 。进一步与哈巴昔对照品数据对比,其色谱、质谱行为一致,故鉴定此峰为哈巴昔,具体裂解信息见图 2。根据该类裂解规律及相关文献报道,本研究共分析鉴定出该类环烯醚萜类成分 8 个<sup>[8-10]</sup>,包括哈巴俄昔(峰 4),阿格托昔(峰 5),斩龙剑昔(峰 6),异阿格托昔(峰 7),安格洛昔(峰 9),8-O-香豆酰基哈巴昔(峰 10),异哈巴俄昔(峰 17),8-O-阿魏酸酰基哈巴昔(峰 19)。结果见表 1。

**3.2 黄酮类** 该类化合物主要来自甘草和麦冬,既有黄酮苷元,也有含糖基的黄酮苷。甘草中含有丰富的黄酮,其相关裂解规律的文献报道较多<sup>[11-13]</sup>,黄酮苷多见丢失相应糖基的苷元离子,其裂解规律与相应苷元的准分子离子裂解规律一致。另外,多数黄酮苷元可观察到脱水或脱甲基离子,因为环的裂解,可见到 B 环断裂、脱 CO 离子。以甘草苷(峰 2)为例阐述裂解过程,见图 3。负离子模式下给出的准分子离子峰  $m/z$  417.119 1  $[M - H]^-$ ,特征碎片  $m/z$  255.068 2  $[M - H -$

$Glu]^-$ ,表明该准分子离子丢失 1 个葡萄糖的中性碎片,接着 B 环断裂,进而中性丢失 CO,产生碎片  $m/z$  135.010 0  $[M - H - Glu - B - Ring - CO]^-$ 。进一步与甘草苷对照品数据对比,其色谱、质谱行为一致,故鉴定此峰为甘草苷,具体裂解信息见图 3。甘草黄酮同分异构体较多,提取准分子离子峰  $m/z$  417.119 1 色谱图可观察到 4 个色谱峰,除根据甘草苷对照品鉴定峰 2 为甘草苷,其余 3 个峰根据保留时间结合文献<sup>[7]</sup>报道推测峰 4 为甘草苷的同分异构体,裂解碎片信息与甘草苷一致,推测为异甘草苷。峰 12 和峰 16 二级裂解碎片信息与甘草苷也相似,但极性小于甘草苷和甘草苷异构体,根据文献报道,推测为新甘草苷和新异甘草苷。而峰 18 和峰 25 给出准分子离子峰  $m/z$  255.066 3,根据元素分析给出分子式为  $C_{15}H_{12}O_4$ ,并都观察到甘草苷脱去糖基的特征碎片,结合文献报道,推测为甘草素和甘草素异构体。据上述质谱裂解规律和文献<sup>[6,8]</sup>报道,还鉴定出该类相同苷元的黄酮苷成分 6 个,包括 7-醛基甘草苷(峰 13),5-羟基甘草苷元-6'-乙酰葡萄糖苷(峰 5),芹糖甘草苷(峰 3),异芹糖甘草苷(峰 11),未知物峰 15 和峰 24。峰 15 和峰 24 根据元素分析均得到分子式为  $C_{32}H_{40}O_{17}$ ,准分子离子  $m/z$  695.219 2  $[M - H]^-$ ,特征碎片离子相似,推测二者为同分异构体。因部分特征碎片与甘草素相同,推测为以甘草素为苷元的黄酮苷,特征碎片离子为  $m/z$  549.163 0  $[M - H - Rha]^-$ , 531.153 0  $[M - H - Rha - H_2O]^-$ , 255.068 0  $[M - H - Rha - Xyl - Glu]^-$ , 135.106 0  $[M - H - Rha - Xyl - Glu - B - Ring - CO]^-$ 。峰 27 根据元素分析给出分子式为  $C_{15}H_{12}O_4$ ,准分子离子峰  $m/z$  267.066 3  $[M - H]^-$ ,特征碎片  $m/z$  252.049 9  $[M - CH_3]^-$ , 224.049 6  $[M - CH_3 - CO]^-$ ,结合文献<sup>[12]</sup>报道推测为芒柄花素。

麦冬黄酮为百合科沿阶草属特有的高异黄酮,此类化合物结构较异黄酮类化合物多 1 个碳原子,由色原酮、色满酮的 C3 位接苄基而形成的一系列衍生物,为一类特殊的黄酮类化合物。根据所鉴定黄酮的碎裂规律,C 环与 B 环连接键均易发生断裂,A 环骨架较稳定。多可观察到 15 Da ( $CH_3$ ),18 Da ( $H_2O$ ),28 Da (CO),44 Da ( $CO_2$ ),46 Da ( $CH_2O_2$ ) 的中性丢失。以麦冬二氢高异黄酮 A 为例,见图 4。与对照品峰保留时间和二级质谱图对比,确认峰 32 为麦冬二氢高异黄酮 A,峰 33 为麦冬二氢高异黄酮 B。根据该类裂解规律及相关文献<sup>[14-15]</sup>报道,还

表 1 玄麦甘桔颗粒中化合物的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents from Xuanmai Ganjie granules by UPLC-Q-TOF-MS

No	分子式	$t_R$ /min	离子模式	$m/z$	$\delta$	二级质谱碎片 $m/z$	鉴定成分	来源
1	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	1.21	M-H	363.129 7	1.0	201.078 6, 183.068 2, 165.057 3, 139.042 8, 89.026 1	哈巴苷	玄参
2	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	5.02	M-H	417.119 1	0.5	255.066 7, 135.009 6, 119.051 0	甘草苷	甘草
3	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	5.11	M-H	549.161 3	-0.2	255.068 4, 135.010 5, 119.042 1	芹糖甘草苷	甘草
4	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	5.20	M-H	417.119 1	2.0	255.066 7, 135.009 6	异甘草苷	甘草
5	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	5.22	M-H	515.119 5	-2.7	417.120 4, 255.068 9, 135.962 4	5-羟基甘草苷元-6'-乙酰葡萄糖苷	甘草
6	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	5.41	M-H	623.205 4	1.3	461.167 1, 315.121 5, 179.235 8, 161.025 7	阿格托苷	玄参
7	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>12</sub>	5.66	M-H	417.150 8	-2.1	323.098 7, 189.058 9, 161.061 6, 147.045 8, 103.056 3	斩龙剑苷 A	玄参
8	C <sub>29</sub> H <sub>36</sub> O <sub>15</sub>	5.89	M-H	623.205 4	0.6	461.167 1, 315.105 3, 179.162 3, 161.106 9	异阿格托苷	玄参
9	C <sub>36</sub> H <sub>48</sub> O <sub>19</sub>	6.65	M-H	783.271 7	-1.3	607.234 5, 175.041 8, 461.325 8, 193.201 3	安格洛苷 C	玄参
10	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>12</sub>	6.86	M-H	509.166 5	-2.1	329.110 1, 285.120 3, 183.065 9, 163.041 8, 147.031 1	8-O-香豆酰基哈巴俄苷	玄参
11	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	7.21	M-H	549.161 3	1.7	255.066 7, 135.009 6, 119.051 0	异芹糖甘草苷	甘草
12	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	7.56	M-H	417.119 1	3.3	255.068 4, 135.010 9, 119.052 5	新甘草苷	甘草
13	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub>	7.66	M-H	429.127 1	-2.8	267.123 1, 135.009 6, 119.051 0	7-醛基甘草苷	甘草
14	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	7.67	M-H	268.073 6	0.7	252.045 2, 224.051 4, 195.047 4, 132.023 8	异芒柄花素	甘草
15	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	7.84	M-H	695.219 2	-4.1	549.163 0, 531.153 0, 255.068 0, 135.106 0, 119.123 1	-	甘草
16	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	7.84	M-H	417.119 1	3.2	255.066 7, 135.020 1, 119.045 2	异新甘草苷	甘草
17	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	8.11	M-H	493.171 5	2.9	345.120 7, 183.067 5, 165.055 4, 147.046 0	异哈巴俄苷	玄参
18	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	8.29	M-H	255.066 3	3.6	135.010 3, 119.051 5, 91.020 5	甘草素	甘草
19	C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> O <sub>13</sub>	8.87	M-H	539.177 1	-0.8	345.121 1, 193.012 2, 175.058 3, 147.046 8	6"-O-阿魏酸酰基哈巴俄苷	玄参
20	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>11</sub>	8.88	M-H	493.171 5	1.5	345.120 8, 183.068 8, 165.056 9, 147.046 9	哈巴俄苷	玄参
21	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	8.89	M-H	345.119 0	-2.6	249.077 9, 207.070 1, 179.057 3, 165.057 3, 139.042 4	桃叶珊瑚苷	玄参
22	C <sub>54</sub> H <sub>84</sub> O <sub>24</sub>	9.03	M+H	1 903.542 5	3.2	785.425 2, 653.392 5, 485.356 8	去芹糖桔梗皂苷 D	桔梗
23	C <sub>57</sub> H <sub>92</sub> O <sub>28</sub>	9.05	M+H	1 225.584 7	2.4	1 093.623 8, 1 063.205 1, 785.424 6, 653.388 8, 485.326 9	桔梗皂苷 D	桔梗
24	C <sub>32</sub> H <sub>40</sub> O <sub>17</sub>	9.16	M-H	695.219 2	1.7	549.163 0, 531.153 0, 255.068 0, 135.106 0, 119.123 1	-	甘草
25	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	11.69	M-H	255.066 3	2.3	135.011 0, 119.062 8, 91.053 1	异甘草素	甘草
26	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>17</sub>	11.85	M-H	837.288 0	3.4	351.085 2, 193.043 2	羟基甘草酸	甘草
27	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	11.96	M-H	268.073 6	0.8	252.045 2, 224.051 4, 195.047 4, 132.023 8	芒柄花素	甘草
28	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	12.69	M-H	821.396 5	-0.9	351.058 9, 193.042 8	甘草酸	甘草
29	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	15.11	M-H	359.113 6	-4.7	344.091 8, 223.063 1, 208.039 5, 154.028 7	麦冬黄烷酮 E	麦冬
30	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>16</sub>	15.27	M+H	855.473 7	3.3	577.216 4, 559.357 6, 431.316 5, 413.303 4, 287.202 0, 269.187 9	麦冬皂苷 D	麦冬
31	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	16.12	M-H	339.087 4	2.6	311.101 7, 293.045 8, 217.051 4, 189.053 4	甲基麦冬黄烷酮 A	麦冬
32	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	18.51	M-H	341.103 0	-1.7	206.023 8, 178.049 5, 163.039 7	甲基麦冬黄烷酮 A	麦冬
33	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	18.95	M-H	327.123 8	2.9	206.057 0, 178.062 4, 163.033 6	甲基麦冬黄烷酮 B	麦冬

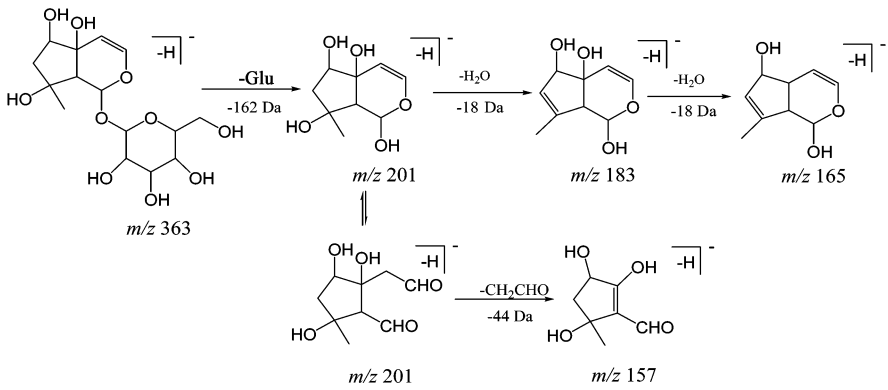


图 2 哈巴苷裂解规律

Fig. 2 Fragmentation pathway of harpagide

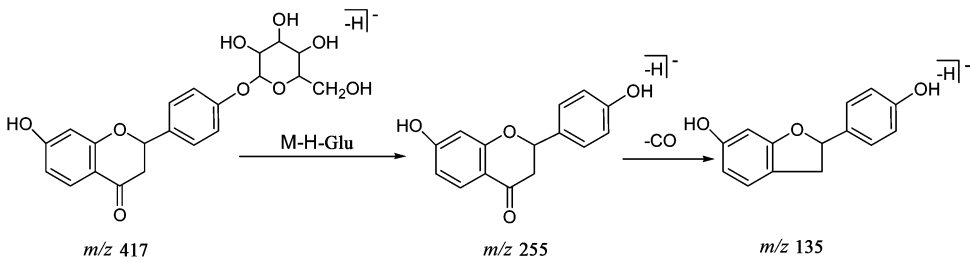


图 3 甘草苷裂解规律

Fig. 2 Fragmentation pathway of liquiritin

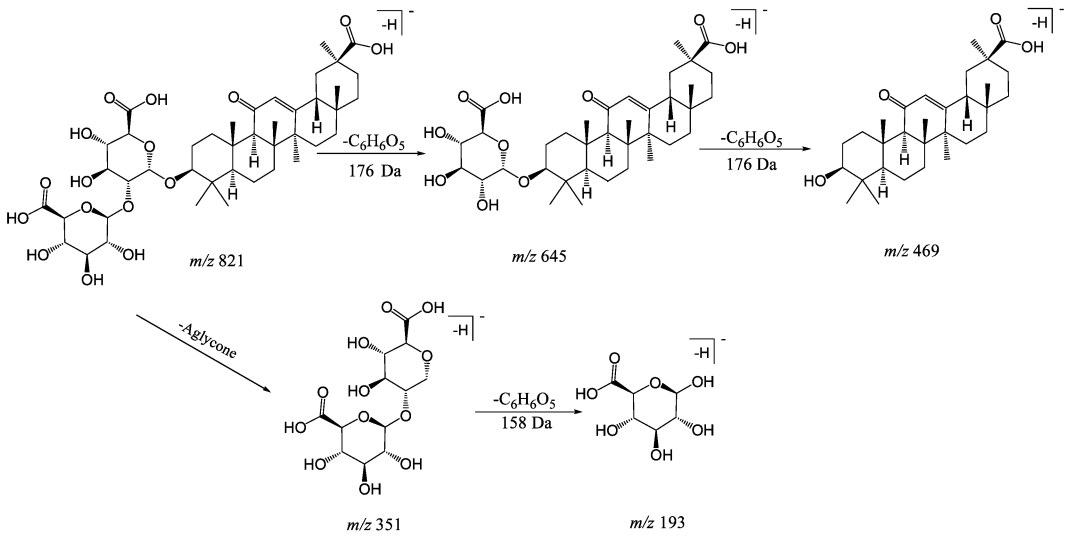


图 4 麦冬二氢高异黄酮 A 裂解规律

Fig. 4 Fragmentation pathway of ophiopogonanone A

鉴定出该类高异黄酮成分 2 个包括冬黄烷酮 E (峰 29) 和甲基麦冬黄酮 A (峰 31)。

**3.3 皂苷类** 皂苷类成分是在存在于甘草、麦冬和桔梗药材中的一类重要成分。甘草和桔梗中主要为三萜皂苷，而麦冬中主要是甾体皂苷。本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS 共识别了 2 个甘草三萜皂苷类化合物，多为甘草酸类衍生物。以甘草酸为例阐述裂解过程见图 5，负离子模式中观察到  $m/z$  821.396 5

$[M-H]^-$ ，由于结构中含有 2 分子葡萄糖醛酸，裂解容易发生脱糖的中性丢失，二级裂解碎片可以观察到  $m/z$  645.205 1  $[M-H-Glu]^-$  和 469.623 8  $[M-H-2Glu]^-$  的特征离子。负离子模式下其结构中易脱去苷元，形成碎片离子  $m/z$  351.058 9  $[M-H-Aglycone]^-$ ，进一步断裂脱去 1 分子葡萄糖醛酸形成  $m/z$  193.042 8  $[M-H-Aglycone-Glu]^-$ 。 $m/z$  351 及 193 碎片离子丰度较大，可作为三萜皂苷

类化合物的特征离子。此外,三萜皂苷类化合物还较易发生连续脱水(18 Da),脱 CO<sub>2</sub>(44 Da)。根据该类

裂解规律及相关文献[12]报道,还鉴定出该类三萜皂苷 1 个,推测为羟基甘草酸(峰 26)。

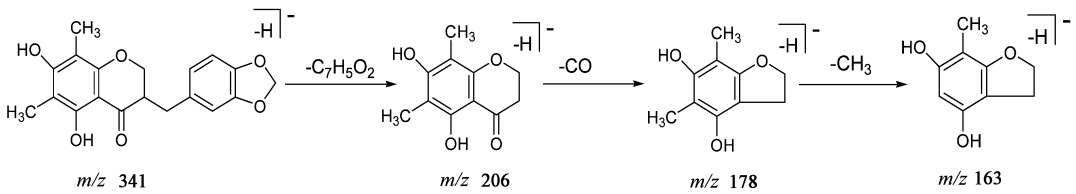


图 5 甘草酸裂解规律

Fig. 5 Fragmentation pathway of Glycyrrhizic acid

桔梗皂苷类成分为齐墩果酸型三萜皂苷,该类成分糖基较多,相对分子质量较大,是桔梗中主要活性成分。以桔梗皂苷 D 为例阐述裂解过程,该类皂苷负离子模式下裂解信息较少,正离子模式裂解信息较为丰富。正离子模式下观察到准分子离子峰  $m/z$  1 224. 999 3 [M + H]<sup>+</sup>, 由于结构中连有多种糖基,易裂解发生连续脱糖的中性丢失,二级裂解碎片可以观察到  $m/z$  1 093. 623 8 [M + H - Api]<sup>+</sup>, 1 063. 205 1 [M + H - Glu]<sup>+</sup>, 785. 424 6 [M + H - Glu - Api - Xyl]<sup>+</sup>, 653. 388 8 [M + H - Glu - Api - Xyl - Rha]<sup>+</sup>, 485. 326 9 [Aglycone + H]<sup>+</sup> 的特征离子。与对照品峰保留时间和二级质谱图对比,确认峰 22 为桔梗皂苷 D。据上述质谱裂解规律,峰 23 正离子模式元素分析给出分子式为 C<sub>57</sub>H<sub>92</sub>O<sub>28</sub>, 准分子离子峰  $m/z$  1 093. 542 5 [M + H]<sup>+</sup>, 特征碎片包括  $m/z$  785. 425 2 [M + H - Glu - Api - Xyl]<sup>+</sup>, 653. 392 5 [M + H - Glu - Api - Xyl - Rha]<sup>+</sup>, 485. 356 8 [Aglycone + H]<sup>+</sup> 等,结合文献[16-17]报道推测为去芹糖桔梗皂苷 D。

本研究中的甾体皂苷主要来源于麦冬。玄麦甘桔颗粒中鉴定了 1 个甾体皂苷类化合物,即麦冬皂苷 D,是麦冬的特征性成分。该类化合物在正离子模式下裂解碎片丰富,因分子结构中连有多个糖基和羟基,易发生丢失所连糖基或脱水的中性丢失。峰 30 的准分子离子峰为  $m/z$  855 [M + H]<sup>+</sup>, 在二级质谱中,该母离子连续丢失糖基和脱水,形成  $m/z$  577. 382 4 [M + H - Xyl - Rha]<sup>+</sup>, 559. 395 6 [M + H - Xyl - Rha - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 431. 521 7 [Aglycone + H]<sup>+</sup>, 413. 326 1 [Aglycone + H - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 287. 412 0 [Aglycone + H - 144]<sup>+</sup>, 269. 219 0 [Aglycone + H - 144 - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> 的特征碎片离子。碎片信息与麦冬皂苷 D 对照品的碎片信息和保留时间均相同,确定为麦冬皂苷 D。

#### 4 讨论

本研究共鉴定玄麦甘桔颗粒中 33 个化学成分,

包括 9 个环烯醚萜类成分,20 个黄酮类成分,4 个皂苷类成分,其中 8 个源自玄参,5 个来自麦冬,18 个来自甘草,2 个源自桔梗。采用 UPLC-Q-TOF-MS 鉴别玄麦甘桔颗粒中化学成分尚属首次报道。以上不同来源、多种类的活性成分通过协同或互补作用,使得玄麦甘桔颗粒具有滋阴润肺,祛痰利咽的疗效<sup>[18-19]</sup>。研究表明,UPLC-Q-TOF-MS 技术可以快速、系统地定性分析玄麦甘桔颗粒中化学成分,对玄麦甘桔颗粒的化学组成进行了初步探索,并研究了几类化合物在 ESI-MS 中的裂解行为,为玄麦甘桔颗粒的药效物质基础及作用机制研究提供了可靠的理论依据。

#### [参考文献]

- [1] 李方. 玄麦甘桔汤治疗咽炎性咳嗽 30 例[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(8): 90-92.
- [2] 唐华平, 郝月琴, 王宏, 等. 加味玄麦甘桔汤治疗咳嗽变异性哮喘 100 例临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10): 64-67.
- [3] 吴茵, 穆华, 刘勇, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定玄麦甘桔颗粒中 8 种有效成分[J]. 中草药, 2015, 46(20): 3034-3038.
- [4] 蒋华科, 陈纯, 符孝军. 高效液相色谱法测定玄麦甘桔颗粒中甘草酸的含量[J]. 中南药学, 2012, 10(2): 103-105.
- [5] 包小红, 周娟, 伍丕娥. HPLC 法测定玄麦甘桔颗粒中甘草酸和哈巴俄苷[J]. 中成药, 2011, 33(4): 625-628.
- [6] 李振东, 徐位良, 罗娇艳. HPLC 法测定玄麦甘桔颗粒中哈巴俄苷与肉桂酸含量[J]. 广东药学院学报, 2008, 24(2): 130-132.
- [7] 张萍, 马银海, 郭亚东, 等. 中药玄麦甘桔颗粒指纹图谱研究[J]. 分析试验室, 2007, 26(S1): 147-150.
- [8] 王静哲, 徐凤, 刘震, 等. 玄参化学成分的 HPLC-ESI-IT-TOF-MS 分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(7): 1257-1268.
- [9] 王静哲, 刘震, 马立满, 等. 基于 UPLC-Q-TOF MS 分

- 析加工炮制对玄参化学成分的影响[J]. 质谱学报, 2016, 37(1): 1-9
- [10] 季金玉, 张云, 丛晓东, 等. 玄参的化学成分及质量控制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(12): 2507-2510
- [11] 杨彬, 王媛, 田梦, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 研究法半夏中甘草化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(3): 45-49
- [12] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068
- [13] 张娟, 刘芬, 李宁, 等. UPLC-TOF-MS 法鉴定胀果甘草药渣中黄酮类成分[J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 558-561.
- [14] LI N, ZHANG J Y, ZENG K W, et al. Anti-inflammatory homoisoflavonoids from the tuberous roots of *Ophiopogon japonicus*[J]. Fitoterapia, 2012, 83(6): 1042-1047.
- [15] XIE T, LIANG Y, HAO H P, et al. Rapid identification of ophiopogonins and ophiopogonones in *Ophiopogon japonicus* extract with a practical technique of mass defect filtering based on high resolution mass spectrometry [J]. J Chromatogra A, 2012, 1227: 234-244.
- [16] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.
- [17] 詹勤. 桔梗在升陷汤中引经作用及其化学成分研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2012.
- [18] 唐华平, 郝月琴, 王宏, 等. 加味玄麦甘桔汤治疗咳嗽变异性哮喘 100 例临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(10): 64-65.
- [19] 郝月琴, 张明泳, 郝万明. 加味玄麦甘桔汤治疗咳嗽变异性哮喘的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(5): 57-58.

[责任编辑 顾雪竹]